

VU Research Portal

Design and synthesis of small nonpeptidergic ligands for the human cytomegalovirus-encoded receptor US28

Hulshof, J.W.

2007

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Hulshof, J. W. (2007). *Design and synthesis of small nonpeptidergic ligands for the human cytomegalovirus-encoded receptor US28*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Samenvatting

Ontwerp en synthese van kleine liganden voor de door humaan cytomegalovirus gecodeerde receptor US28

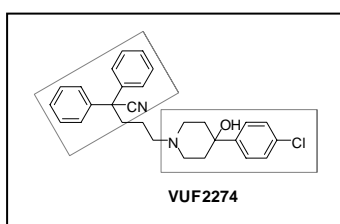
Verschillende DNA virussen, zoals herpesvirussen en pokkenvirussen, hebben chemokine receptoren van hun gastheer opgenomen in hun eigen virale genoom om het chemokine systeem van de gastheer te ondermijnen. Slechts een klein aantal van deze viraal-gecodeerde G-eiwit gekoppelde receptoren (GPCRs) zijn ook echt functionele chemokine receptoren, die in staat zijn om chemokines te binden en het 'endogene' signaal door te geven. Het genoom van het beta-herpesvirus humaan cytomegalovirus (HCMV) codeert verschillende GPCRs, waarvan US28 op dit moment het best gekarakteriseerd is. Veel mensen (50-90% van de volwassenen) zijn besmet met HCMV. Dit virus heeft alleen ernstige gevolgen voor mensen met een verzwakt immuun systeem. Onder die omstandigheden kan een infectie met het virus mogelijk bijdragen aan de ontwikkeling van hart- en vaatziekten, verschillende ontstekings- en auto-immuunziekten, kanker en HIV. Op dit moment is de exacte rol van US28 tijdens HCMV infectie niet bekend. Wel laten de uitkomsten van verschillende farmacologische onderzoeken zien dat US28 een belangrijke rol speelt binnen de virale pathofysiologie, bijvoorbeeld in de ontwikkeling van atherosclerose, HIV en kanker.

US28 is een constitutief actieve receptor, dat wil zeggen dat de receptor geactiveerd is in afwezigheid van chemokine liganden. Blokkeren van deze viraal gecodeerde receptor en het daarbij remmen van de constitutieve signalering zou een nieuwe strategie kunnen zijn voor de ontwikkeling van geneesmiddelen tegen de symptomen van HCMV infectie. De constitutieve signalering van GPCRs kan geremd worden door inverse agonisten, zoals 5-(4-(4-chlorophenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl)-2,2-diphenylpentaannitrile (VUF2274). Dit molecuul is de eerste inverse agonist dat beschreven is voor US28.

Het onderzoek dat beschreven is in dit proefschrift is gericht op het ontwerp, synthese en farmacologische karakterisatie van kleine niet-peptide liganden voor de HCMV gecodeerde chemokine receptor US28. Deze nieuwe liganden zijn gebruikt om de allereerste structuur-activiteitsrelaties voor US28 liganden te definiëren. Deze informatie kan vervolgens gebruikt worden om een beter inzicht te krijgen in de moleculaire aspecten van de interactie tussen de liganden en de receptor.

Hoofdstuk 1 geeft een algemene inleiding over de achtergronden en context waarop dit onderzoek is gebaseerd. Er wordt een overzicht van de mogelijke functies van US28 gegeven en er wordt uitgelegd waarom deze receptor beschouwd kan worden als een nieuw potentieel target voor anti-virale geneesmiddelen. Verder wordt een gedetailleerde beschrijving gegeven van alle bekende US28 liganden en hun structuur-activiteitsrelaties. Aan het einde van dit hoofdstuk wordt het doel van dit proefschrift beschreven.

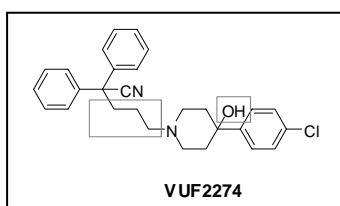
In hoofdstuk 2 wordt de synthese en structuur-activiteitsrelaties van de allereerste niet-peptide inverse agonisten voor US28 beschreven. Verschillende



veranderingen werden aangebracht op diverse plaatsen in de moleculaire structuur van VUF2274. Farmacologische evaluatie van deze liganden resulteerde in de allereerste structuur-activiteitsrelaties van niet-peptide liganden op een

viraal gecodeerde GPCR (US28) en lieten zien dat een 4-phenyl piperidine groep in het molecuul belangrijk is voor affiniteit en activiteit, terwijl de nitril groep niet essentieel is.

Hoofdstuk 3 geeft een uiteenzetting van een nieuwe serie van moleculen, waarin de rigiditeit van de propyl linker tussen de diphenyl groep en de piperidine ring



werd verhoogd door het invoeren van een dubbele binding. Dit resulteerde in een 3 keer hogere bindings affiniteit dan leadverbinding VUF2274. Vervanging van de 4-hydroxy groep door een methylamine groep was zelfs nog gunstiger, en

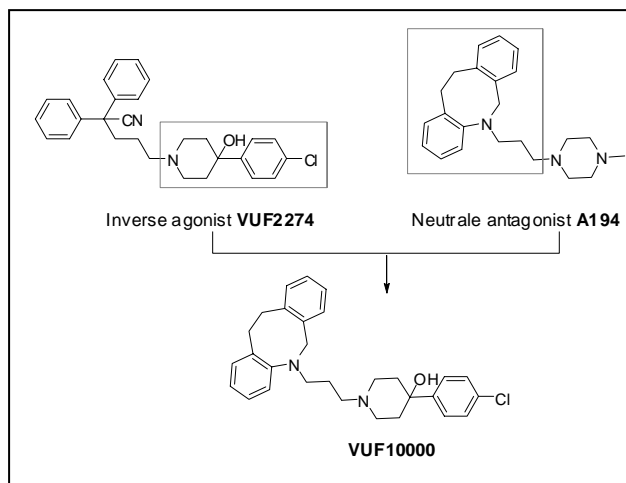
leidde tot een 6 keer hogere affiniteit.

Hoofdstuk 4 beschrijft onze pogingen om betere inverse agonisten met een verschillende structuur te identificeren met behulp van moleculaire modelling technieken. In hoofdstuk 2 en 3 worden vele derivaten van VUF2274 beschreven. Geen van deze modificaties in de structuur resulteerde in een enorme sprong in affiniteit. Daarom werd besloten om meer rigoreuze veranderingen aan te brengen in de structuur. Dit werd gedaan door een virtuele bibliotheek van verbindingen te ontwerpen met als basis het commercieel verkrijgbare 4-(4-chlorophenyl)piperidin-4-ol. Uitgaande van deze verbinding en commercieel verkrijgbare reagentia werden *in silico* alle eindproducten gemaakt. Van deze virtuele verbindingen werden vele fysisch chemische eigenschappen (descriptors) berekend. Aan de hand van de gegenereerde data werd onderzocht welke (sub)set van 50 verbindingen de grootste chemische diversiteit beschreven. De geselecteerde verbindingen moesten ook voldoen aan stricte eigenschappen waaraan medicijnen in het algemeen lijken te voldoen. Vervolgens werd deze set van verbindingen gesynthetiseerd via parallele synthese technieken. Dit resulteerde in de isolatie van 18 eindproducten. Farmacologische karakterisatie van deze verbindingen resulteerde in een nieuwe inverse agonist voor US28. Alle andere gesynthetiseerde verbindingen hadden geen affiniteit of activiteit op de receptor.

In hoofdstuk 5 wordt onze zoektocht naar nieuwe chemotypes voortgezet door een database van verbindingen te screenen op US28. De moleculen werden geselecteerd op basis van de overeenkomsten die ze hebben met andere bekende US28-liganden. Het onderzoek in dit hoofdstuk leidde tot de identificatie van verschillende interessante liganden, waarvan enkelen werden gekozen als nieuw startpunt voor lead optimalisatie (zie hoofdstuk 6 en 7). Bovendien werden de twee allereerste neutrale antagonisten voor een viraal gecodeerde receptor (US28) ontdekt, namelijk 5-(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-5,6,11,12-tetrahydrodibenzo[*b,f*]azocine (A194) en 2-phenyl-1,2,3,4,6,7,12,12*b*-octahydroindolo[2,3-*a*]quinolizine (B191). Deze twee

moleculen dienen als nieuwe farmacologische tools om de eigenschappen van US28 verder te onderzoeken.

Hoofdstuk 6 beschrijft de lead optimalisatie en structuur-activiteitsrelaties van een aantal verbindingen die als hits uit de database screening kwamen (zie hoofdstuk 5). Synthese van een hybride verbinding (VUF10000), die zowel



belangrijke structuur eigenschappen van de inverse agonist VUF2274 als van de neutrale antagonist A194 bevat (zie figuur), en de farmacologische evaluatie liet zien dat het vervangen van de *N*-methylpiperazine ring van A194 door de 4-(4-chlorophenyl)-piperidin-4-

ol groep van VUF2274 leidde tot de voorziene herstel van de inverse agonistische eigenschappen. We hebben dus die moleculaire eigenschappen kunnen bepalen die verantwoordelijk zijn voor de intrinsieke activiteit, en dan voornamelijk voor inverse agonisme ten opzichte van antagonisme. Bovendien leidde deze aanpassing in de structuur tot de meest potente verbinding die ooit beschreven is op US28 met een 7 keer hogere bindingsaffiniteit dan VUF2274 en A194. Deze liganden geven een beter inzicht in de ligand-receptor interacties en de eisen waaraan de structuur van een molecuul moet voldoen voor neutraal antagonisme en inverse agonisme. Daarnaast kan de mogelijkheid om de functionele activiteit op US28 te reguleren ons helpen om het belang van de constitutieve signalering en de rol van US28 tijdens infectie met HCMV te onderzoeken.

Screening van onze eigen bibliotheek van verbindingen, zoals beschreven in hoofdstuk 5, resulteerde in de identificatie van 2-(2,4-dichlorobenzyl)-2,3-

dihydro-1*H*-inden-1-amine (Z193) als een nieuwe inverse agonist voor US28. Hoofdstuk 7 beschrijft de optimalisatie van dit molecuul door de twee chlooratomen te vervangen door andere substituenten. Daarnaast werden verschillende cyclische ring systemen en kleine groepen geïntroduceerd op het stikstofatoom. De synthese en farmacologische karakterisatie van deze verbindingen resulteerde in de eerste structuur-activiteitsrelaties van deze nieuwe groep van inverse agonisten.

Dit proefschrift heeft een beschrijving gegeven van de ontwerp en synthese van kleine liganden voor de viraal gecodeerde receptor US28 via multidisciplinaire benaderingen, zoals lead optimalisatie, screening van een bibliotheek van verbindingen en moleculaire design technieken. In dit onderzoek zijn zowel nieuwe inverse agonisten als neutrale antagonisten geïdentificeerd, die ons meer inzicht hebben geven in de eigenschappen waaraan een molecuul moet voldoen voor binding en functionele activiteit op US28. Uiteindelijk zal deze kennis ons verder helpen om liganden met een hogere activiteit en betere selectiviteit te ontwikkelen.